Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 38, No. 4, Winter 2024, p. 763-775

Effect of Cytokine Treatment on Spring Scion Stimulation of Taracco Scion on Citromelo Rootstock

S.M. Gholami[1] , M. Hadadinejad[2*], H. Moradi[3], H. Sadeghi[3]

1, 2 and 3- M.Sc. Graduated, Assistant Professor and Associate Professor, Department of Horticulture, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Sari, Iran, respectively
(*- Corresponding Author Email: m.hadadinejad@sanru.ac.ir)

Received: 11-05-2024 Revised: 10-08-2024 Accepted: 13-08-2024 Available Online: 13-08-2024	**How to cite this article:** Gholami, S.M., Hadadinejad, M., Moradi, H., & Sadeghi, H. (2024). Effect of cytokine treatment on spring scion stimulation of Taracco scion on Citromelo rootstock. *Journal of Horticultural Science*, *38*(4), 763-775. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2024.87914.1343

Introduction

Bud dormancy is one of the important issues in planting and cultivation of fruit trees that needs to be addressed in many trees such as orange (*Citrus sinensis*). Bud dormancy involves cessation of horizontal and vertical growth, lack of budbreak, and reduction in plant activity during cold weather. One of the commercial orange cultivars is Tarocco blood orange which compared to older blood cultivars, is larger in size and with lower alternate bearing has higher marketability. The nursery trees of this cultivar are grafted on sour orange, citrange, and vigorous rootstock of citrumelo (a hybrid between trifoliate orange and grapefruit) (Talon *et al.*, 2020). One of the major problems of nurserymen in spring grafting of Tarocco cultivar on vigorous citrumelo rootstock is the failure of about 50 percent of buds to break compared to other cultivars on the same rootstock and other similar rootstocks. This unwanted dormancy leads to a one-year delay in the nursery tree production process and unnecessary occupation of nursery space. Given the commercial importance of blood orange and the adverse effects of bud dormancy on yield and fruit lifetime, solutions are used to control and overcome this problem. One of the effective solutions is the application of cytokinins which can stimulate the growth of graft buds (Yadav & Saini, 2018).

Materials and Methods

This research was conducted in a citrus nursery at the University of Agricultural Sciences and Natural Resources of Sari, in late May 2022. Citrumelo seedlings were grown in 5.3 liter pots containing a loamy-silt soil mix in the nursery location. Tarocco cultivar buds were prepared from a seven-year-old mother orchard and T-budding was performed in June (during rootstock bark slipping). All hormone treatments were applied after graft union and before bending the branch using a soft brush on the graft buds. The applied treatments included hormone treatment (control, 5000 mg.l^{-1} benzyladenine, 1000 mg.l^{-1} kinetin, and 50 mg.l^{-1} thidiazuron) and treatment time (13, 15, and 17 days after grafting). After two months, some traits related to budbreak and growth of the grafted buds were evaluated.

Results and Discussion

The results showed that thidiazuron and benzyladenine treatments had better effects compared to kinetin treatment on spring budbreak and initial growth of Tarocco grafted buds. In a way that 50 mg.l^{-1} thidiazuron treatment had the highest number of sprouted buds (67.91), largest leaf area (118.04 cm^2), highest number of leaves (16.50), especially when applied 13 days after grafting. Also, in leaf size related traits, leaf area indices, graft growth rate as well as chlorophyll and carotenoid content of Tarocco graft leaves were significantly affected by different hormonal treatments and application times, with 50 mg.L^{-1} thidiazuron being more effective than other treatments. Cytokinins can promote division and expansion of leaf cells and thereby result in increased cell numbers and improvement of different leaf parameters. Also, cytokinins regulate important physiological processes like photosynthesis. Application

https://doi.org/10.22067/jhs.2024.87914.1343

of these materials provides cell division especially in areas like buds and growth points and also possibly more buds may form on the spring graft by using these treatments during the grafting process which can lead to increased bud break and faster plant growth (Cook & Bahar, 2017). Increasing cytokinin levels can stimulate the photosynthesis process which results in increased food production, leaf growth and ultimately increased leaf area. On the other hand, cytokinins affect plant metabolism and can regulate production and accumulation of different growth factors. This may lead to a better balance in nutrient distribution and metabolic activities which in turn aids leaf area increase (Hodchek *et al*., 2023). Finally, according to the obtained results, it can be recommended to nurserymen of this cultivar to use 50 mg.L^{-1} thidiazuron 13 days after grafting as a practical and effective strategy for increasing spring budbreak, growth and development of Tarocco buds grafted on citrumelo.

Conclusion

In general, based on the results, the application of 50 mg.l^{-1} of thidiazuron 13 days after grafting can be considered a practical and effective strategy to enhance bud awakening, as well as the growth and development of Tarocco spring shoots on citronmelo. This practice is recommended for producers of seedlings of this cultivar.

Keywords: Benzyl adenine, Blood orange, Bud dormancy, Thidiazoron

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۸، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳، ص. ۷۷۵-۷۶۳

تأثیر تیمار سایتوکینین روی برخی از صفات ریخت‌شناختی و فیتوشیمیایی پیوندک بهاره 'تاراکو' روی پایه 'سیتروملو'

سید محمود غلامی[1]- مهدی حدادی نژاد[2]*- حسین مرادی[3]- حسین صادقی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۵/۲۳

چکیده

رقم 'تاراکو' یکی از محبوب‌ترین ارقام پرتقال خونی به‌شمار می‌آید که ازدیاد آن از طریق پیوند روی پایه پررشد 'سیتروملو' صورت می‌گیرد، ولی در پیوند بهاره دچار رکود می‌شود. با توجه به نقش سایتوکینین‌ها در بیدار شدن و رشدونمو جوانه‌ها، پژوهش حاضر به‌منظور بررسی اثر زمان (۱۳، ۱۵ و ۱۷ روز پس از پیوند) و غلظت ترکیبات سایتوکینینی (۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین، ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون) بر رفع رکود و برخی صفات پیوندک بهاره 'تاراکو' روی پایه پررشد سیتروملو' در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. نتایج نشان داد که زمان و نوع هورمون اثر معنی‌داری روی رفع رکود و رشد پیوندک بهاره 'تاراکو' دارند، به‌طوری‌که اعمال تیمار هورمونی تی دیازورون ۱۳ روز پس از پیوندزنی منجر به رفع رکود در بیش از ۹۰ درصد پیوندک‌ها گردید. همچنین مشخص شد که تیمارهای تی‌دیازورون و بنزیل آدنین نتیجه بهتری در مقایسه با تیمار کینتین روی بیدار شدن جوانه و رشد اولیه پیوندک بهاره 'تاراکو' داشتند. تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون، بیشترین تعداد جوانه شکفته شده (۹۱/۶۷)، سطح برگ (۱۱۸/۰۴ سانتی‌متر مربع) و تعداد برگ (۱۶/۵۰) را به‌ویژه در زمان اعمال ۱۳ روز پس از پیوندزنی دارا بود. به‌طورکلی، با توجه به نتایج به‌دست آمده، استفاده از ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون در ۱۳ روز پس از پیوندزنی را می‌توان به‌عنوان یک راهکار عملی و مؤثر به‌منظور افزایش بیدار شدن جوانه و رشدونمو پیوندک بهاره رقم 'تاراکو' روی پایه 'سیتروملو' برای تولیدکنندگان نهال این رقم توصیه نمود.

واژه‌های کلیدی: بنزیل آدنین، پرتقال خونی، تی‌دیازورون، رکود جوانه

مقدمه

خواب پیوندک، یکی از مشکلات مهم در نهالستان‌های درختان میوه است که پس از انجام و گرفتن پیوند رخ می‌دهد و در بسیاری از گیاهان نظیر پرتقال (*Citrus sinensis*) نیاز به بررسی دارد. خواب پیوندک شامل توقف رشد افقی و عمودی، عدم تولید جوانه و فعالیت پیوندک پس از گرفتن پیوند است. یکی از ارقام تجاری پرتقال توسرخ، 'تاراکو' نام دارد که حاصل جهش شاخه‌ای بوده و اولین بار در کشور ایتالیا شناسایی شده است. رقم 'تاراکو' با داشتن شاخه‌هایی پررشد و پوست ضخیم‌تر از جمله ارقام جدیدی است که نسبت به ارقام خونی قدیمی‌تر، به‌دلیل درشتی و سال‌آوری کمتر، از بازارپسندی بیشتری نیز برخوردار می‌باشد. نهال این رقم روی پایه‌های 'نارنج'، 'سیترنج' و پایه پررشد 'سیتروملو' (دورگ بین نارنج سه‌برگ و گریپ‌فروت) عرضه می‌شود (Albrigo *et al*., 2019; Talon *et al*., 2020). از مشکلات عمده نهال‌کاران در کوپیوند بهاره رقم 'تاراکو' روی پایه پررشد 'سیتروملو'، عدم بیداری (راکد ماندن) حدود ۵۰ درصد از پیوندک‌ها نسبت به دیگر ارقام روی همین پایه و دیگر پایه‌های مشابه می‌باشد. این رکود ناخواسته منجر به تأخیر یک‌ساله در روند تولید نهال و اشغال فضای نهالستان می‌گردد، تا جایی‌که رشد زیاد پایه منجر به پوشاندن پیوندک می‌گردد. با توجه به اهمیت تجاری پرتقال خونی و آثار منفی خواب پیوند بر عملکرد و عمر میوه، راهکارهایی برای مهار و رفع این مشکل مورد استفاده قرار می‌گیرد. یکی از راهکارهای مؤثر کاربرد تنظیم‌کننده رشد می‌باشد. اخیراً برخی از نهال‌کاران جهت رفع این

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
(*- نویسندهٔ مسئول: Email: m.hadadinejad@sanru.ac.ir)

https://doi.org/10.22067/jhs.2024.87914.1343

مشکل با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد، اقدام به تیمار پیوندک در ماه های خرداد و تیر می‌نمایند (Tanavardi *et al*., 2013). سایتوکینین‌ها به‌عنوان گروهی از هورمون‌ها با تأثیر مثبت بر رشد و توسعه گیاهان شناخته شده‌اند. بررسی‌ها نشان داده است که سایتوکینین‌هایی نظیر کنتین، گروه مهمی از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی می‌باشند که می‌توانند بر روی تحریک رشد جوانه پیوندک در نارنگی مؤثر باشند (Yadav & Saini, 2018; Sosnowski *et al*., 2023). بر حسب زمان یا محل به‌کارگیری هورمون، ممکن است شکل‌گیری یا از بین رفتن یک لایه سلولی تسریع یا ممانعت شود. غلظت زیاد هورمون در برخی از بافت‌ها، منجر به انحراف مسیر طبیعی رشد انجام می‌گردد و گاهی می‌تواند منجر به کاهش شدید یا افزایش شدید رشد تا حد مرگ بوته‌های حساس شود (Hollobone, 2020; Martin, 2020).

به نظر می‌رسد که غلظت بهینه سایتوکینین در زمان مناسب بتواند از طریق افزایش تقسیم سلولی و تسریع برقراری ارتباط آوندی پایه و پیوندک و یا با خنثی کردن بازدارنده‌های رشد، موجب فعال شدن محرک‌های رشد گردیده و ضمن رفع رکود جوانه در پیوندک بهاره، منجر به افزایش بهره‌وری نهالستان شود. این ترکیبات به‌طور معمول در شاخص‌های رشد، جوانه‌زنی، تقسیم سلولی و تنظیم فعالیت جوانه‌ها نقش دارند. تحقیقات قبلی نشان داده است که سایتوکینین‌ها می‌توانند تأثیر قابل‌توجهی بر رفع خواب پیوند در بسیاری از گیاهان داشته باشند. در مطالعه انجام شده توسط تان و همکاران (Tan *et al*., 2019)، اثرات رشدی سایتوکینین‌ها بر خواب پیوندک در درختان سیب (*Malus spectabilis*) ارزیابی شد. نتایج نشان داد که کاربرد سایتوکینین‌ها منجر به رشد مستقیم جوانه پیوندک، افزایش جوانه‌زنی و بهبود عملکرد شده است. به‌طور مشابه، در تحقیق صورت گرفته توسط نیدز و بومن (Niedz & Bowman, 2023) نقش سایتوکینین‌ها در بهبود کارآیی پیوند مرکبات بررسی شد. نتایج نشان داد که سایتوکینین‌ها با ایجاد اختلال در سرکوب اکسینی که توسط جوانه انتهایی اعمال می‌شود، در بهبود شکستن خواب برگ‌های جانبی مؤثر هستند. این نتایج نشان می‌دهد که سایتوکینین‌ها می‌توانند به‌عنوان یک روش مؤثر در رفع خواب پیوند در گیاهان مثل پرتقال خونی نیز مورد استفاده قرار گیرند. تانوردی و همکاران (Tanavardi *et al*., 2013) به‌منظور بررسی کاربرد غلظت‌های مختلف کینتین و اثر خم‌کردن پایه از بالای محل پیوندک بر تحریک رشد جوانه پیوندک و صفات رویشی در ازدیاد رقم نارنگی 'میاگاوا' با پایه 'سیتروملو'، آزمایشی در شرایط گلخانه‌ای انجام دادند. تیمار کینتین با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر قبل از عملیات خم‌کردن و با غلظت ۱۵۰۰ میلی‌گرم در لیتر بعد از عملیات خم‌کردن، تأثیر بیشتری در فاکتور رشد جوانه پیوندک داشت. کینتین با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بیشترین ارتفاع پیوندک را در دو زمان خم‌کردن به همراه داشت. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی اثرات غلظت سایتوکینین و زمان تیمار بر شکستن رکود جوانه در پیوندک‌های پرتقال خونی پیوند شده روی پایه 'سیتروملو' می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در یک نهالستان مرکبات خصوصی واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، از زمستان ۱۳۹۹ تا تابستان ۱۴۰۱ انجام شد (شکل ۱). در سال اول، پایه 'سیتروملو' به‌صورت دانهالی در محل نهالستان در گلدان‌های ۳/۵ لیتری در بستر لومی سیلتی پرورش یافت. پیوندک رقم 'تاراکو' از باغ مادری هفت‌ساله تهیه و عملیات پیوند جوانه به‌روش T معکوس در خرداد ماه سال ۱۴۰۱ (زمان پوست‌دهی پایه) انجام شد. تیمارهای اعمال شده شامل تیمار هورمونی (شاهد (آب مقطر)، ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین، ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین و ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون) و زمان اعمال تیمار (۱۳، ۱۵ و ۱۷ روز پس از پیوند) بود. پس از رشد پیوندک، در صورت بیدار شدن چندین جوانه و جست، نسبت به حذف جوانه‌های ضعیف‌تر (ناقص و کوچک) اقدام شد. پس از رشد کافی پیوندک‌ها، برخی از صفات مرتبط با بیدار شدن جوانه و رشد پیوندک‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

اندازه‌گیری صفات

صفات ریخت‌شناختی (تعداد جوانه‌های شکفته، تعداد گره، تعداد برگ و سطح برگ)، صفات زیستی (وزن تر و خشک شاخساره، شاخص سطح برگ، سطح ویژه، ضخامت و تراکم برگ) و صفات فیزیولوژیکی (کلروفیل a، کلرفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید) پیوندک پس از دو ماه، با بیدار شدن جوانه و رشد پیوندک‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت.

سطح برگ

پس از ثبت تصویر از برگ، اندازه‌گیری سطح برگ با استفاده از نرم‌افزار گرافیکی انجام شد. برای این کار، ابتدا برگ‌های مورد نظر را از گیاه جدا نموده، آن‌ها را به آزمایشگاه منتقل کرده و با استفاده از اسکنر، اسکن نموده و به‌صورت تصویر ذخیره گردید. سپس با استفاده از نرم‌افزار گرافیکی فتوشاپ (PS cs5 extended ver12 64x 1990-2010) ابتدا آن را کالیبره کرده و سپس اندازه‌گیری‌ها براساس پیکسل انجام گرفت و در نهایت، به سانتی‌مترمربع تبدیل شد.



شکل ۱- نهالستان محل اجرای آزمایش

Figure 1- The nursery where the experiment was conducted

سطح ویژه برگ

از تقسیم سطح برگ (سانتی‌مترمربع) بر وزن خشک برگ (گرم) به‌دست آمد.

سطح ویژه برگ = (LA1/LW1+ LA2/LW2)/2 (۱)

که در آن، LA: سطح برگ و LW: وزن خشک برگ می‌باشند.

ضخامت برگ

از تقسیم وزن تر برگ (گرم) بر سطح برگ (سانتی‌مترمربع) به‌دست آمد.

ضخامت برگ = (وزن تر برگ)/(سطح برگ) (۲)

تراکم برگ

تراکم برگ نمونه‌ها از تقسیم وزن خشک برگ (میلی گرم) بر وزن تر برگ (گرم) به‌دست می‌آید (Xiong *et al*., 2016).

تراکم برگ = (وزن خشک برگ)/(وزن تر برگ) (۳)

نرخ رشد مطلق (AGR)

نرخ رشد مطلق بیشتر در مورد یک گیاه و یا یک اندام مشخص از یک گیاه مانند رشد برگ و یا وزن برگ به‌کار می‌رود و به‌صورت سانتی‌متر در روز بیان می‌شود.

$$AGR = (h_2 - h_1) / (t_2 - t_1) \quad (۴)$$

که در آن، h_1 و h_2: به‌ترتیب ارتفاع بوته در t_1 و t_2 برابر است

کلروفیل و کاروتنوئید

جهت اندازه‌گیری میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی ابتدا ۰/۵ گرم از وزن برگ تازه را در پنج میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد سابیده و پس از سانترفیوژ با دور ۱۳۰۰۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه، مایع روشناور جدا گردیده و اندازه‌گیری طیف نور جذبی محلول با دستگاه اسپکتوفتومتر مدل PC۱۸۰۰UV در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۴۶، ۶۶۳ و ۴۷۰ نانومتر انجام شد. در نهایت، با استفاده از معادلات زیر مقدار کلروفیل a، b، کل و کارتنوئیدها محاسبه شد (Arnon, 1949):

(۵)

میلی‌گرم کلروفیل a در هر گرم برگ تر = [12.7 × A663) – (2.69× A645)] ×V/W×1000

میلی‌گرم کلروفیل b در هر گرم برگ تر =[22.9 × A645) – (4.69× A663)] ×V/W×1000

میلی‌گرم کلروفیل کل در هر گرم برگ تر = [20.2 × A646) + (8.02× A663)] ×V/W×1000

میلی‌گرم کارتنوئید در هر گرم برگ تر = [1000 × A470) - (1.8× Chla)-(85.02×Chlb)] ×V/W×1000

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور شامل تیمار هورمونی و زمان اعمال تیمار با چهار تکرار و هر تکرار شامل دو گلدان به اجرا در آمد. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

نتایج و بحث

براساس نتایج این پژوهش، پیوندهایی که تحت تأثیر تیمارهای هورمونی نبودند، دچار رکود شده و جوانه نزدند و ازآنجاکه جوانه بیدار شده‌ای نداشتند (راکد ماندند). برای کاهش میزان خطای تجزیه، شاهد (عدم اعمال تیمار هورمونی) مورد تجزیه قرار نگرفت.

صفات ریخت‌شناختی

نتایج بررسی صفات ریخت‌شناختی نشان داد که اثر متقابل تیمار هورمونی و زمان پیوند بر تمامی پارامترها در سطح یک درصد معنی‌دار شده است (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در بین تیمارهای مورد بررسی بیشترین تعداد جوانه‌های شکفته شده (۹۱/۶۷درصد) پیوندک بهاره 'تاراکو' در تیمار ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین در هر سه زمان اعمال تیمار مشاهده شد که البته با تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول ۲). از طرف دیگر، کمترین تعداد جوانه‌های شکفته شده (۱۳/۶۳درصد) در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین در زمان ۱۵ روز پس از پیوندزنی مشاهده شد. نتایج نشان داد که با کاهش فاصله زمانی بین پیوند و تیمار هورمونی در تی دیازورن، درصد شکوفایی پیوندک از ۳۳ درصد (روز ۱۷) به ۶۶ درصد (روز ۱۵) افزایش و در نهایت، به ۹۱ درصد (روز ۱۳) رسید.

بررسی مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن بود که کمترین تعداد گره (۵/۷۵) در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین در زمان ۱۷ روز پس از پیوندزنی مشاهده شد و سایر تیمارها اختلاف اندکی با یکدیگر نشان دادند (جدول ۲).

بنزیل ادنین و کینتین، سایتوکینین‌های نوع آدنین با ساختار شیمیایی مشابه هستند، امّا در BA، یک گروه بنزیل را می‌توان به‌جای گروه فورفوریل یافت. بنزیل آدنین و کینتین دارای تنها یک حلقه آروماتیک (بنزن یا پیریدین) هستند که به حلقه آدنین متصل می‌شود، امّا تی‌دیازورون دارای دو حلقه آروماتیک (بنزن و پیپرازین) است که با پل آمینی به هم متصل می‌شوند (Bozsó & Barna, 2021). سه ترکیب بنزیل آدنین، کینتین و تی‌دیازورون همگی جزء سایتوکینین‌ها محسوب می‌شوند که دارای تفاوت‌های ساختاری مهمی هستند و این تفاوت‌ها خود باعث تداخل‌هایی در فرآیندهای رشدونمو می‌گردند. بنزیل آدنین، ساده‌ترین ساختار را دارد و تحریک‌کننده اصلی رشد طولی ساقه و ریشه است (Mangena, 2022). کینتین علاوه‌بر رشد طولی، بر تقسیم سلولی و افزایش اندازه اندام‌های گیاهی نیز تأثیر می‌گذارد (Nielsen *et al*., 1993). تی‌دیازورون به‌عنوان قوی‌ترین و پیچیده‌ترین ساختار سبب تحریک همزمان رشد طولی و قطری می‌شود و بر تقسیم سلولی بیشتر اثر می‌گذارد. با افزایش پیچیدگی ساختار شیمیایی، تأثیر بر فرآیندهای گیاهی نیز افزایش می‌یابد (Kim & Sivanessan, 2016). سایتوکینین با تنظیم فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عمل به‌عنوان یک پاک‌کننده مؤثر رادیکال‌های آزاد، نقش اساسی در رشد کالوس ایفا می‌کند. چوبی شدن و اتصال آوندی مناسب در پیوندک‌های تحت تیمار با سایتوکینین ممکن است دلیل موفقیت در گیرایی پیوند و رشد خوب پیوندک باشد که ممکن است منجر به افزایش طول ساقه و سطح برگ در پیوندک شود (Jogaiah & Porika, 2023).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات ریخت‌شناختی رقم' تاراکو' پیوند شده روی پایه 'سیتروملو'

Table 1 - ANOVA for the morphological characteristics of 'Taracco' scion on the 'Citromelo' rootstock

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares							
		شکفتن جوانه Bud break	تعداد گره Node number	تعداد برگ Leaf number	سطح برگ Leaf area	سطح ویژه برگ Specific leaf area	ضخامت برگ Leaf thickness	تراکم برگ Leaf density	رشد مطلق AGR
تیمار هورمونی Hormone treatment (H)	2	9130**	8.18**	114.2**	1534**	66733**	0.00025**	2720**	0.563**
زمان پیوند Grafting time (T)	2	3130**	34.7**	61.7**	4504**	4856**	0.00014**	11100**	0.247**
H × T	4	937**	21.9**	52.5**	2536**	29139**	0.00015**	3251**	0.182**
خطا Error	27	7	1.5	1.8	25	823	0.000001	277	0.001
ضریب تغییرات C.V (%)		4.20	10.18	10.27	5.61	9.63	3.06	5.87	9.28

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد.

**: significant at 1% of probability level.

AGR: Absolute Growth Rate

تأخیر در انجام تیمارهای سـایتوکینینی ممکن اسـت منجر به کاهش تعداد جوانه‌های شـکفته شـده در پیوندک بهاره 'تاراکو' روی 'سیتروملو' شود. مشخص شده است که اثر تیمارهای سایتوکینینی به‌طور موقتی است و به مرور زمان کاهش می‌یابد. اگر تیمارها به‌موقع انجام نشـوند و یا با تأخیر انجام شـوند، این تأثیر کمتر خواهد بود و احتمالاً تعداد جوانه‌های شکفته شده کاهش خواهد یافت. همچنین، با تأخیر در انجام این تیمارها، تعداد جوانه‌های شکفته شده کمتر می‌شود، چرا که این تأخیر می‌تولند فرصـت کمتری برای رشـد و جوانه‌زنی به‌وجود آورد (Tan *et al*., 2019; Bidabadi *et al*., 2018; Morris *et al*., 1990). اثر مثبت سـایتوکینین‌ها بر تعداد گره نیز قبلاً توسـط پیوندی و همکاران (Peyvandi *et al*., 2015) در گیاه اسطوخودوس و سـالک معراجی و همکاران (Salek Mearaji *et al*., 2021) در ارقام گیاه کینوا گزارش شده است که با نتایج بررسی حاضر مطابقت دارد. سایتوکینین‌ها در تنظیم رشد و توسعه گیاهان نقش مهمی دارند و می‌توانند تعداد گره‌های پیوندک جوانه مرکبات پیوند شـده روی پایه 'سـیتروملو' را تحت تأثیر قرار دهند. سـایتوکینین‌ها می‌توانند با تنظیم تقسیم سلولی، تأثیر مستقیمی بر تعداد گره‌های پیوندک جوانه داشته باشـد. با افزایش میزان سـایتوکینین‌ها، تشـکیل شـاخه در گیاهان تحریک می‌شود (Shoja & Shishavani, 2021; Lorteau *et al*., 2001) که منجر به افزایش تعداد گره‌های پیوندک جوانه مرکبات شود.

در مجموع، اعمال تیمار در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی باعث ایجاد گیاهانی با بیشـترین تعداد برگ گردید (جدول ۲). این روند نشان‌دهنده آن است که تیمار در زمان‌های ابتدایی پیوندزنی می‌تواند بیشـترین تأثیر را بر تعداد برگ گیاهان رشـد کرده داشـته باشـد. تیمار ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی باعث تولید گیاهانی با بیشـترین تعداد برگ (۱۶/۷۵) شـد که البته با برخی از تیمارها به‌ویژه با تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۲). نتایج بررسـی حاضـر در مورد افزایش تعداد برگ با تیمارهای مختلف سایتوکینینی با سالک معراجی و همکاران (Salek Mearaji *et al*., 2021) در گیاه کینوا (*Chenopodium quinoa*) و صـبورا و شـکری (Saboora & Shokri, 2014) در گیـاه دارویی برازمبـل (*Perovskia atriplicifolia*) مطابقت دارد. تعداد برگ‌های پیوندک جوانه مرکبات پیوند شده روی پایه 'سیتروملو' ممکن است تحت تأثیر سـایتوکینین‌ها قرار بگیرد که می‌تواند دلایل مختلفی داشـته باشـد. سایتوکینین‌ها می‌توانند تقسیم سلولی را در جوانه‌ها و برگ‌های جانبی تنظیم کنند. با افزایش سطح سایتوکینین، تقسیم سلولی در جوانه‌های جانبی تحریک می‌شـود که منجر به افزایش تعداد برگ‌های پیوندک جوانه می‌شـود(Chamani *et al*., 2013; Maxwell & Kieber, 2005). با افزایش سایتوکینین، جذب و توزیع مواد غذایی به برگ‌ها و جوانـه‌ها افزایش می‌یابـد کـه ممکن اسـت منجر بـه افزایش تعداد برگ‌هـای پیونـدک جوانـه مرکبـات شـود (Sosnowski *et al*., 2023; Wu *et al*., 2021; Skalák *et al*., 2019). بیشـترین سـطح برگ پیوندک بهاره 'تاراکو' در ۱۳ روز پس از پیوندزنی مشـاهده شـد (جدول ۲). این روند نشـان‌دهنده آن اسـت که اعمال تیمارهای سـایتوکینینی در اوایل زمان پیوندزنی، نتیجه بهتری در مورد افزایش سـطح برگ پیونـدک بهاره 'تاراکو' روی 'سـیتروملو' دارد. در بین تیمارهای اعمال شده، تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی، بیشـترین سـطح برگ (۱۱۸/۰۴ سـانتی‌متر مربع) را به خود اختصاص داده بود، البته از لحاظ آماری با تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی (۱۱۳/۷۱ سـانتی‌متر مربع) و تیمار ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین در زمان ۱۷ روز پس از پیوندزنی (۱۰۹/۰۱ سانتی‌متر مربع) اختلاف معنی‌داری نشـان نداد (جدول ۲). این در حالی بود که تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین در زمان ۱۷ روز پس از پیوندزنی، کمترین سـطح برگ (۱۱۸/۰۴ سـانتی‌متر مربع) را نشـان داد (جدول ۲). تیمار سـایتوکینین می‌تواند به تشـکیل بافت‌های جدید کمک کند. این بافت‌ها می‌توانند شامل سلول‌های جدید با ساختار و ویژگی‌های مختلف باشند و باعث افزایش سطح برگ‌ها شوند. همچنین، تیمار سایتوکینین ممکن است به تمایز و تفکیک سـلول‌ها در مناطق مختلف برگ کمک کند. این تفکیک‌بندی جدید سلول‌ها ممکن اسـت که منجر به افزایش سـطح برگ‌ها شود (Hudeček *et al*., 2023; Wu *et al*., 2021; Giron *et al*., 2007). نتایج بررسـی حاضـر با یافته‌های سـالک معراجی و همکـاران (Salek Mearaji *et al*., 2021) و گونزالز و همکـاران (Gonzalez *et al*., 2012) در مورد اثرات مثبـت انواع مختلـف تیمارهای سایتوکینینی بر ویژگی‌ها و شاخص‌های مختلف سطح برگ مطابقت دارد. تیمـارهـای هورمونی سـایتوکینینی می‌توانـد اثرات متعددی بر رشـد و توسعه گیاهان داشـته باشـند. یکی از این تأثیرات، افزایش سطح ویژه برگ‌ها می‌باشد. دلیل اصلی این افزایش به تأثیرات سـایتوکینین در رشـد و توسـعه بافت‌های گیاهی و تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی مرتبط با رشـد گیاهان برمی‌گردد. تیمارهای هورمونی کینتینی می‌توانند به‌طور مستقیم و غیرمستقیم نرخ رشد مطلق گیاهان را افزایش دهند. کینتین‌ها، تقسیم سلولی را تحت تأثیر قرار می‌دهند و باعث افزایش تعداد سلول‌ها می‌شوند. این تغییرات در تقسیم سـلولی ممکن است به نرخ رشد مطلق گیاهان کمک کنند. کینتین‌ها می‌توانند رشد ساقه‌ها و برگ‌ها را تنظیم کنند. کینتین‌ها ممکن است در تنظیم توازن هورمونی گیاهان نقش داشته باشند. تعاملات بین سایتوکینین‌ها و دیگر هورمون‌ها مانند اکسـین‌ها می‌تواند به تنظیم رشـد و توسـعه گیاهان کمک کند. کینتین‌ها ممکن است توزیع مواد مغذی در گیاه را

بهبود دهند و تأمین منابع غذایی به اندازه کافی برای رشد بهتر گیاهان کمک کنند (Ghanem *et al*., 2011).

مقایسات میانگین نشان داد که در هر یک از زمان‌های اعمال تیمارهای هورمونی، تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین بیشترین ضخامت برگ را دارا بود (جدول ۲). تأثیر سایتوکینین بر رشد و توسعه گیاهان به‌خصوص در مرحله توسعه برگ‌ها مورد توجه قرار گرفته است. سایتوکینین‌ها به‌عنوان هورمون‌های گیاهی مهمی شناخته می‌شوند که در تنظیم رشد و توسعه گیاهان نقش مهمی دارند (Sosnowski *et al*., 2023). تغییرات ابعاد و اندازه برگ توسط انواع مختلف هورمون‌های سایتوکینینی قبلاً هم توسط دی بندتو و همکاران (Di Benedetto *et al*., 2015) در گیاه پتوس (*Epipremnum aureum*) و محمود و همکاران (Mehmood *et al*., 2021) در گیاه کنجد (*Sesamum indicum*) گزارش شده است که هم‌راستا با نتایج بررسی حاضر می‌باشد. سایتوکینین‌ها می‌توانند تنظیم‌کننده‌های رشد ضخامتی باشند. با افزایش سایتوکینین، رشد ضخامتی برگ‌ها تحریک می‌شود و ضخامت برگ‌ها افزایش می‌یابد. در مرحله توسعه برگ‌ها، سایتوکینین‌ها تأثیر قابل توجهی بر رشد سلولی دارند. زمانی‌که سطح سایتوکینین‌ها در گیاه افزایش می‌یابد، این هورمون‌ها باعث افزایش انبساط سلولی می‌شوند، این انبساط سلولی منجر به افزایش اندازه برگ‌ها و افزایش ضخامت آن‌ها می‌گردد (Wu *et al*., 2021). کینتین یک نوع سایتوکینین است و در فرآیندهای رشد و توسعه گیاهان نقش دارد. این هورمون می‌تواند با تحریک تقسیم‌سلولی در مناطق مختلف برگ، تعداد سلول‌ها را افزایش داده و این می‌تواند به‌طور مستقیم منجر به افزایش ضخامت برگ شود. کینتین می‌تواند ترکیباتی را فعال کند که به افزایش حجم سلول‌ها کمک می‌کنند. این امر باعث می‌شود که سلول‌ها بزرگ‌تر شوند و ضخامت برگ افزایش یابد. کینتین می‌تواند ترتیب و نحوه رشد سلول‌ها را تنظیم کند. با تغییر الگوهای رشد، ممکن است سلول‌ها به شکل‌ها و ساختارهای مختلفی رشد کنند که منجر به افزایش ضخامت برگ می‌شود (Tabeta *et al*., 2023; Gonzalez *et al*., 2012; Holst *et al*., 2011).

در مجموع، بیشترین تراکم برگ در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی و در تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون مشاهده شد که البته از لحاظ آماری با برخی از تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول ۴). این روند نشان‌دهنده آن است که اعمال تیمارهای سایتوکینینی در زمان‌های ابتدایی پیوندزنی می‌تولند بیشترین تأثیر را بر تراکم برگ پیوندک‌های رشد کرده داشته باشد. سایتوکینین‌ها، گروهی از هورمون‌های گیاهی هستند که در ریشه‌ها تولید می‌شوند و به‌صورت آکروپتال به سمت بالا حرکت کرده و رشد شاخه‌ها را تحریک می‌کنند. این هورمون‌ها همچنین می‌توانند فعالیت سینک برگ‌های قدیمی را حفظ کنند و با کاهش تجزیه پروتئین، فعالیت نیتروژنی و افزایش غلظت پروتئین در برگ‌های قدیمی، پیری برگ‌ها را به تأخیر بیندازند، که این تأخیر موجب حفظ برگ‌های پیر، در کنار برگ‌های جوان می‌شود (Glanz-Idan *et al*., 2022). تی‌دیازورون می‌تواند به تشکیل بافت‌های جدید کمک کند. با افزایش تشکیل بافت‌ها، سلول‌ها، بافت‌های جدیدی را ایجاد می‌کنند که در نهایت، منجر به افزایش تراکم برگ‌ها می‌شود. همچنین، تیمار تی‌دیازورون ممکن است به تغییر الگوهای رشد سلول‌ها منجر شود. این تغییرات می‌تواند به افزایش تراکم برگ‌ها منجر شود (Tabeta *et al*., 2023; Gonzalez *et al*., 2012). در پژوهشی، تأثیر سایتوکینین بر تراکم برگی درختان ماندارین (*Citrus reticulata* Blanco) پس از پیوند مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که استفاده از پایه‌هایی که سایتوکینین بیشتری تولید می‌کنند، منجر به افزایش تراکم برگی درختان شده است. این تغییرات در تراکم برگی به‌دلیل تغییرات در ترکیبات متابولیتیک برگ‌ها بود. برخی از ترکیبات متابولیتیک مانند اسیدهای آلی، فلاوونوئیدها، آمینواسیدها و مشتقات آن‌ها، آلکالوئیدها و نوکلئوتیدها و مشتقات آن‌ها در برگ‌هایی که با پایه‌هایی که سایتوکینین بیشتری تولید می‌کنند پیوند خورده‌اند، تغییر کرده بودند. این تغییرات در ترکیبات متابولیتیک می‌تواند به تغییرات در تراکم برگی منجر شود (Hayat *et al*., 2022).

نتایج نشان داد که در تمامی زمان‌ها اعمال تیمارهای هورمونی، پیوندک‌های تیمار شده با ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین بیشترین AGR را به خود اختصاص داده بودند (جدول ۲). سایتوکینین‌ها تأثیر مثبتی بر تقسیم سلولی دارند که در نتیجه، به افزایش نرخ رشد گیاه منجر می‌شود. این هورمون‌ها توانایی تحریک جوانه‌های جانبی را داشته که باعث افزایش تعداد شاخه‌ها و سایر شاخص‌های رشدی می‌شود (Sosnowski *et al*., 2023). همچنین می‌توانند فرآیند جوانه‌زنی را تحریک کنند و تأثیر مثبتی بر رشد و عملکرد گیاهان داشته باشند (Wu *et al*., 2021). تیمارهای هورمونی کینتینی می‌توانند به‌طور مستقیم و غیرمستقیم نرخ رشد مطلق گیاهان را افزایش دهند. کینتین‌ها تقسیم سلولی را تحت تأثیر قرار داده و باعث افزایش تعداد سلول‌ها می‌شوند. این تغییرات در تقسیم سلولی ممکن است به نرخ رشد مطلق گیاهان کمک کنند. کینتین‌ها ممکن است در تنظیم توازن هورمونی گیاهان نقش داشته باشند. تعاملات بین سایتوکینین‌ها و دیگر هورمون‌ها مانند اکسین‌ها می‌تواند به تنظیم رشد و توسعه گیاهان کمک کند. کینتین‌ها ممکن است که توزیع مواد مغذی در گیاه را بهبود دهند و در دسترسی گیاهان به مواد غذایی و رشد بیشتر آن ها کمک نمایند (Ghanem *et al*., 2011).

صفات فیتو شیمیایی

نتایج جدول تجزیه واریانس نشـــان داد که اثر متقابل تیمار هورمونی و زمان تیمار بر صـفات فیتوشـیمیایی در سـطح یک درصـد معنی‌دار شده است (جدول ۳).

بررســی نتایج جدول مقایســه میانگین‌ها نشــان داد که تقریباً در تمامی زمان‌های اعمال تیمارهای هورمونی، پیوندک‌های تیمار شده با ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین، بیشـترین سـطح ویژه برگ را دارا بودند (جدول ۴).

جدول ۲- صفات ریخت‌شناختی رقم‌ 'تاراکو' پیوند شده روی پایه 'سیتروملو'

Table 2- The morphological traits of 'Taracco' scion on the 'Citromelo' rootstock

زمان تیمار Treatment time	انواع تیمار Types of treatment	جوانه شکفته Bud opening	تعداد گره Node number	تعداد برگ Leaf number	سطح برگ Leaf area (cm^2)	سطح ویژه برگ Specific leaf area ($cm^2.g\ DM^{-1}$)	ضخامت برگ Leaf thickness ($g\ DM.cm^{-1}$)	تراکم برگ Leaf density ($mg\ DM.g\ FM^{-1}$)	رشد مطلق AGR ($g.cm^{-2}$)
13	بنزیل آدنین BA	91.67a*	14.00a	15.25abc	105.82b	347b	0.0108f	278bc	0.267e
	کینتین Kinetin	51.00c	13.25a	13.75cde	113.71ab	341b	0.0112f	292b	0.384d
	تی‌دیازورون TDZ	91.67a	15.00a	16.50ab	118.04a	255d	0.0125e	329a	0.249e
15	بنزیل آدنین BA	91.67a	15.00a	16.75a	88.18c	489a	0.0088g	249c	0.271e
	کینتین Kinetin	45.83d	8.75b	12.25de	85.65c	176e	0.0312a	210d	0.651b
	تی‌دیازورون TDZ	66.41b	10.50b	11.25e	64.43d	242d	0.0145c	285b	0.526c
17	بنزیل آدنین BA	91.67a	14.00a	15.00abc	109.01ab	314bc	0.0110f	309ab	0.404d
	کینتین Kinetin	13.63f	5.75c	3.00f	35.96e	239d	0.0155b	311ab	1.079a
	تی‌دیازورون TDZ	33.33e	13.00a	14.00bcd	90.62c	272cd	0.0135d	285b	0.266e

* در هر ستون، اعداد دارای حروف مشابه از نظر آماری در سطح یک درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

* In each column, the numbers with the same letters are not significant at the %1 of probability levels based on Duncan's multiple range test.

بررسـی رنگدانه‌های فتوسـنتزی نشـان داد که پیوندک‌های تیمار شـــده با ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون در زمان ۱۳ روز پس از پیونـدزنی بـا ۱/۵۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر کلروفیـل a و بـا ۱/۹۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر کلروفیل کل، بیشـترین میزان را در بین سایر تیمارها دارا بودند (جدول ۴). این در حالی اســت که بیشـــترین میزان کلروفیل b در پیوندک‌های تیمار شده با ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین در ۱۵ روز پس از پیوندزنی مشـاهده گردید (جدول ۴). بیشـترین میزان کـاروتنوئیـد بـه‌ترتیـب در تیمـارهـای ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون در زمان ۱۳ روز پس از پیوندزنی (۱/۶۰ میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر کینتین در زمـان ۱۵ روز پس از پیونـدزنی (۱/۴۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین در زمان ۱۷ روز پس از پیوندزنی (۱/۴۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) به‌دســـت آمد (جدول ۴). ســـایتوکینین، یکی از مهم‌ترین هورمون‌های رشـد گیاهی اسـت که نقش مهمی در تنظیم بیان ژن‌ها

دارد. این هورمون با اتصال به گیرنده‌های پروتئینی خاصی به نام‌های AHK در سلول‌های گیاهی، فرآیندهای گوناگونی را تحت تأثیر قرار می‌دهد که از جمله آن‌ها می‌توان به تحریک بیان ژن‌های مرتبط با رشدونمو اشاره کرد. سایتوکینین باعث فعال‌سازی عوامل رونویسی می‌شود که خود موجب بیان ژن‌ها می‌گردند. بنابراین، سایتوکینین با تنظیم بیان ژن‌های مرتبط با رشد، نقش مهمی در تکامل و گسترش گیاه دارد (Brenner *et al.*, 2012). سایتوکینین با اتصال به گیرنده‌های خاصی به‌نام AHK در سلول‌های گیاهی فعال می‌شود. این اتصال باعث فعال شدن سلسله مراتب انتقال سیگنال داخل سلولی می‌گردد. در این سلسله مراتب، عامل رونویسی ARR1 که تحت تأثیر سایتوکینین است، فعال می‌شود. سپس ARR1 با اتصال به توالی‌های خاص در محل پروموتر ژن‌های هدف، باعث بیان آن‌ها می‌گردد. ژن‌های هدف عمدتاً شامل عوامل رشدی مانند ژن‌هایی مرتبط با ساخت گیاه، تقسیم سلولی و افزایش اندازه سلول می‌باشند که باعث تکامل و رشد گیاه می‌شوند. بنابراین سایتوکینین از طریق سلسله مراتب انتقال سیگنال داخل سلولی، تنظیم‌کننده بیان ژن‌های مرتبط با رشد است (Osugi & Sakakibara, 2015).

اثرات مثبت تیمارهای مختلف سایتوکینینی بر میزان کلروفیل قبلاً نیز توسط کلاته جاری و همکاران (Kalate Jari *et al*., 2008) گزارش شده است. سایتوکینین‌ها می‌توانند تأثیر مهمی بر میزان کلروفیل در برگ‌های پیوندک جوانه مرکبات پیوند شده روی پایه 'سیتروملو' داشته باشند. نشان داده شده است که سایتوکینین‌ها می‌توانند تنظیم‌کننده‌های فعالیت آنزیم‌های زایموپلاست باشند. آنزیم‌های زایموپلاست در فرآیند تولید کلروفیل در برگ‌ها نقش دارند. با افزایش سایتوکینین، فعالیت این آنزیم‌ها تحریک می‌شود که می‌تواند منجر به افزایش میزان کلروفیل در برگ‌ها شود. سایتوکینین‌ها می‌توانند روند تولید کلروفیل در برگ‌ها را تنظیم کنند. با افزایش سایتوکینین، ممکن است که برگ‌ها به‌طور مؤثرتر از نور استفاده کنند و میزان کلروفیل در آن‌ها افزایش یابد. همچنین عواملی از جمله نوع سایتوکینین، غلظت آن، زمان و نحوه کاربرد، شرایط رشد گیاهان و نوع گیاه نیز می‌تواند در اثرگذاری سایتوکینین بر مقدار کلروفیل مؤثر باشد (Glanz-Idan *et al*., 2022; Zubo *et al*., 2008; Dobránszki and Mendler-Drienyovszki, 2014).

نتایج بررسی حاضر در مورد اثر تیمارهای سایتوکینینی بر میزان کاروتنوئید برگ با یافته‌های جمشیدی و همکاران (Jamshidi *et al*., 2018) و صادقی و همکاران (Sadeghi *et al*., 2022) هم‌خوانی دارد. تیمارهای هورمونی سایتوکینینی می‌توانند باعث افزایش میزان کاروتنوئیدها در برگ‌ها و سایر اجزاء گیاهان شوند. سایتوکینین‌ها می‌توانند فعالیت آنزیم‌های مختلف را در مسیرهای بیوشیمیایی تنظیم کنند. آنزیم‌های مختلفی برای تولید کاروتنوئیدها مشارکت دارند. با تنظیم بهتر فتوسنتز، تولید انرژی و مواد غذایی افزایش می‌یابد که ممکن است به افزایش تولید کاروتنوئیدها کمک کند. کاروتنوئیدها به‌عنوان رنگیزه‌های جذب نور عمل می‌کنند. سایتوکینین‌ها ممکن است به تنظیم جذب نور و توزیع آن در گیاه کمک کنند و در نتیجه، به افزایش تولید کاروتنوئیدها منجر شوند (Gujjar *et al*., 2020; Zavaleta-Mancera *et al*., 2007).

جدول ۳- تجزیه واریانس ویژگی‌های رشدی و فیتوشیمیایی رقم 'تاراکو' پیوند شده روی پایه 'سیترومِلو'

Table 3 - ANOVA for the growth and phytochemical characteristics of 'Taracco' scion on the 'Citromelo' rootstock

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean squares			
		کلروفیل a Chl a	کلروفیل b Chl b	کلروفیل کل Total chl	کاروتنوئید Carotenoid
تیمار هورمونی Hormone (H)	2	0.0161**	0.2129**	0.0940**	0.1071**
زمان پیوند Grafting time (T)	2	0.0384**	0.0357**	0.0064ns	0.0027ns
H × T	4	0.1864**	0.0352**	0.2846**	0.1677**
خطا Error	27	0.0029	0.0005	0.0021	0.0116
ضریب تغییرات C.V (%)		4.45	6.16	2.90	8.13

ns، **: به‌ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

ns, **: non-significant and significant at 1% of probability level, respectively

جدول ۴- صفات رشدی و فیتوشیمیایی رقم 'تاراکو' پیوند شده روی پایه 'سیتروملو'
Table 4- Comparison of means growth and phytochemical traits

زمان تیمار Treatment time	انواع تیمار Types of treatment	کلروفیلa Chl a (mg.g FW^{-1})	کلروفیلb Chl b (mg.g FW^{-1})	کلروفیل کل Total chl (mg.g FW^{-1})	کاروتنوئید Carotenoid (mg.g FW^{-1})
13	بنزیل آدنین BA	1.02e*	0.489b	1.51d	1.08e
	کینتین kinetin	1.13d	0.247f	1.37e	1.31bcd
	تی‌دیازورون TDZ	1.58a	0.414c	1.99a	1.60a
15	بنزیل آدنین BA	1.05de	0.702a	1.75b	1.21cde
	کینتین kinetin	1.26b	0.357d	1.62c	1.46ab
	تی‌دیازورون TDZ	1.12de	0.296e	1.41e	1.32bcd
17	بنزیل آدنین BA	1.33b	0.444bc	1.78b	1.44ab
	کینتین kinetin	1.24bc	0.286ef	1.52cd	1.12de
	تی‌دیازورون TDZ	1.14cd	0.301e	1.44de	1.36bc

* در هر ستون، اعداد دارای حروف مشابه از نظر آماری در سطح یک درصد با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.
* In each column, the numbers with the same letters are not significant at the %1 of probability levels based on Duncan's multiple range test.

نتیجه‌گیری

نتایج بررسی‌ها نشان داد که تیمارهای تی‌دیازورون و بنزیل آدنین نتیجه بهتری در مقایسه با تیمار کینتین روی بیدار شدن جوانه و رشد اولیه پیوندک بهاره 'تاراکو' داشتند. تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون، بیشترین تعداد جوانه‌های شکفته شده (۹۱/۶۷)، سطح برگ (۱۱۸/۰۴ سانتی‌متر مربع)، تعداد برگ (۱۶/۵۰)، وزن تر (۱۲/۸۲ گرم) و وزن خشک شاخساره (۳/۹۰ گرم) را به‌ویژه در زمان اعمال ۱۳ روز پس از پیوندزنی دارا بود. در بررسی ویژگی‌های مرتبط با اندازه برگ، شاخص‌های سطح برگ، میزان رشد پیوندک و نیز میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئید برگ پیوندک 'تاراکو' نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای مختلف هورمونی و همچنین زمان‌های اعمال تیمار قرار داشتند، به‌طوری‌که تیمار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون مؤثرتر از سایر تیمارها بود. در نهایت، با توجه به نتایج به‌دست آمده، استفاده از غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر تی‌دیازورون در ۱۳ روز پس از پیوندزنی را می‌توان به‌عنوان یک راهکار عملی و مؤثر به‌منظور افزایش بیدار شدن جوانه و رشدونمو پیوندک بهاره 'تاراکو' روی 'سیتروملو' برای تولیدکنندگان نهال این رقم توصیه نمود.

References

1- Albrigo, L.G., Stelinski, L.L., & Timmer, L.W. (2019). *Citrus, 2nd Edition*. CABI, 314 p.
2- Arnon, D.T. (1949). Copper enzymes in isolation chloroplast phenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology, 24*, 1-15. https://doi.org/10.1104/pp.24.1.1
3- Bidabadi, S.S., Afazel, M., & Sabbatini, P. (2018). Iranian grapevine rootstocks and hormonal effects on graft union, growth and antioxidant responses of Asgari seedless grape. *Horticultural Plant Journal, 4*(1), 16-23. (In Persian)

4- Bozsó, Z., & Barna, B. (2021). Diverse effect of two cytokinins, kinetin and benzyladenine, on plant development, biotic stress tolerance, and gene expression. *Life*, *11*(12), 1404. https://doi.org/10.3390/life11121404
5- Brenner, W.G., Ramireddy, E., Heyl, A., & Schmülling, T. (2012). Gene regulation by cytokinin in *Arabidopsis. Frontiers in Plant Science*, *3*, 8. https://doi.org/10.3389%2Ffpls.2012.00008
6- Chamani, E., Ghasemnejad, M., & Geraylo, S. (2013). *An Introduction to the Physiology of Flowering Plants.* Mohaghegh Ardabili University Press, Ardabil, Iran. 26 pp. (In Persian)
7- Di Benedetto, A., Galmarini, C., & Tognetti, J. (2015). Effects of combined or single exogenous auxin and/or cytokinin applications on growth and leaf area development in *Epipremnum aureum. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *90*(6), 643-654. https://doi.org/10.1080/14620316.2015.11668727
8- Dobránszki, J., & Mendler-Drienyovszki, N. (2014.) Cytokinin-induced changes in the chlorophyll content and fluorescence of *in vitro* apple leaves. *Journal of Plant Physiology*, *171*(16), 1472-1478. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.06.015
9- Ghanem, M.E., Albacete, A., Smigocki, A.C., Frébort, I., Pospísilová, H., Martínez-Andújar, C., Acosta, M., Sánchez-Bravo, J., Lutts, S., Dodd, I.C., & Pérez-Alfocea, F. (2011). Root-synthesized cytokinins improve shoot growth and fruit yield in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants. *Journal of Experimental Botany*, *62*(1), 125-140. https://doi.org/10.1093/jxb/erq266
10- Giron, D., Kaiser, W., Imbault, N., & Casas, J. (2007). Cytokinin-mediated leaf manipulation by a leafminer caterpillar. *Biology Letters*, *3*(3), 340-343. https://doi.org/10.1098%2Frsbl.2007.0051
11- Glanz-Idan, N., Lach, M., Tarkowski, P., Vrobel, O., & Wolf, S. (2022). Delayed leaf senescence by upregulation of cytokinin biosynthesis specifically in tomato roots. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 922106. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.922106
12- Gonzalez, N., Vanhaeren, H., & Inze, D. (2012). Leaf size control: Complex coordination of cell division and expansion. *Trends in Plant Sciences*, *17*, 332-340. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.02.003
13- Gujjar, R.S., Banyen, P., Chuekong, W., Worakan, P., Roytrakul, S., & Supaibulwatana, K. (2020). A synthetic cytokinin improves photosynthesis in rice under drought stress by modulating the abundance of proteins related to stomatal conductance, chlorophyll contents, and rubisco activity. *Plants*, *9*(9), 1106. https://doi.org/10.3390/plants9091106
14- Hayat, F., Li, J., Liu, W., Li, C., Song, W., Iqbal, S., Khan, U., Javed, H.U., Altaf, M.A., Tu, P., Chen, J., & Liu, J. (2022). Influence of citrus rootstocks on scion growth, hormone levels, and metabolites profile of 'Shatangju'mandarin (*Citrus reticulata* Blanco). *Horticulturae*, *8*(7), 608. https://doi.org/10.3390/horticulturae8070608
15- Hollobone, J. (2020). *Propagation Techniques for Flowers, Vegetables, and Trees: Growing Plants from Seeds, Cuttings, Grafts, Division, and Bulbs*. Company, Incorporated, 192 p.
16- Holst, K., Schmulling, T., & Werner, T. (2011). Enhanced cytokinin degradation in leaf primordia of transgenic *Arabidopsis* plants reduces leaf size and shoot organ primordia formation. *Journal of Plant Physiology*, *168*, 1328-1334. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.03.003
17- Hudeček, M., Nožková, V., Plíhalová, L., & Plíhal, O. (2023). Plant hormone cytokinin at the crossroads of stress priming and control of photosynthesis. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 1103088. https://doi.org/10.3389%2Ffpls.2022.1103088
18- Jamshidi, A., Ebrahimi, M.A., Rajabian, T., Bakhshi khaniki, Gh.R., & Mozaffari, S. (2018). Study the effects of auxins and cytokinins on growth, pigments and protein contents of *Chlorella sorokiniana*. *Journal of Plant Research*, *31*(2), 303-315. (In Persian)
19- Jogaiah, S., & Porika, H. (2023). Scion preconditioning and cytokinin treatment improved graft compatibility in Red Globe grape grafted on Dogridge rootstock. *Indian Journal of Horticulture*, *80*(2), 165-170.
20- Kalate Jari, S., Khalighi, A., Moradi, F., & Fattahi Moghaddam, M.R. (2009). The effects of cytokinins, sucrose and 8-hydroxyquinoline sulfate on the longevity and postharvest quality of cut rose flowers var. Red Gant. *Iranian Journal of Horticultural Science (IJHS)*, *39*(1), 125-135. (In Persian)
21- Kim, D.H., & Sivanessan, I. (2016). Influence of benzyladenine and thidiazuron on shoot regeneration from leaf and shoot tip explants of *Sedum sarmentosum* Bunge. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *59*, 16150717. https://doi.org/10.1590/1678-4324-2016150717
22- Lorteau, M.A., Ferguson, B.J., & Guinel, F.C. (2001). Effects of cytokinin on ethylene production and nodulation in pea (*Pisum sativum*) cv. Sparkle. *Physiologia Plantarum*, *112*(3), 421-428. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2001.1120316.x
23- Mangena, P. (2022). Evolving role of synthetic cytokinin 6-benzyl adenine for drought stress tolerance in soybean (*Glycine max* L. Merr.). *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *6*, 992581. https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.992581
24- Martin, F.J. (2020). *Plant Propagation Book: The Process of Creating New Plants*. Independently Published, 84 p.
25- Maxwell, B.B., & Kieber, J.J. (2005). *Cytokinin signal transduction. In Plant hormones: biosynthesis, signal transduction, action*. Dordrecht: Springer Netherlands. pp. 329-357.

26- Mehmood, M., Pérez-Llorca, M., Casadesús, A., Farrakh, S., & Munné-Bosch, S. (2021). Leaf size modulation by cytokinins in sesame plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *167*, 763-770. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.09.013
27- Morris, J.W., Doumas, P., Morris, R.O., & Zaerr, J.B. (1990). Cytokinins in vegetative and reproductive buds of *Pseudotsuga menziesii*. *Plant Physiology*, *93*(1), 67-71. https://doi.org/10.1104/pp.93.1.67
28- Niedz, R.P., & Bowman, K.D. (2023). Improving citrus bud grafting efficiency. *Scientific Reports*, *13*(1), 17807. https://doi.org/10.1038/s41598-023-44832-x
29- Nielsen, J. M., Brandt, K., & Hansen, J. (1993). Long-term effects of Thidiazuron are intermediate between benzyladenine, kinetin or isopentenyladenine in *Miscanthus sinensis*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, *35*, 173-179. https://doi.org/10.1007/BF00032967
30- Osugi, A., & Sakakibara, H. (2015). Q&A: How do plants respond to cytokinins and what is their importance?. *BMC Biology*, *13*(1), 1-10. https://doi.org/10.1186/s12915-015-0214-5
31- Peyvandi, M., Kazemi, L., & Majd, A. (2016). Effect of different cytokinins on micropropagation of *Lavandula vera*. *Journal of Plant Research*, *28*(2), 257-263. (In Persian). https://doi.org/28204
32- Saboora, A., & Shokri, M. (2014). Effect of plant growth regulators on in vitro germination and micropropagation of brazmbl (*Perovskia abrotanoides*), a medicinal plant. *Iranian Journal of Plant Biology*, *5*(18), 95-114. (In Persian).
33- Sadeghi, F., Sohrabi, Y., & Sio-Se Mardeh, A. (2022). Effect of plant growth regulators on soluble carbohydrates, photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence of Sirvan and Homa wheat cultivars in rainfed and irrigation conditions. *Journal of Crop Production and Processing*, *12*(3), 81-100. (In Persian). http://dx.doi.org/10.47176/jcpp.12.3.36862
34- Salek Mearaji, H., Tavakoli , A., & Sepahvand, N.A. (2021). Evaluating the effect of cytokinin foliar application on morphological traits and yield of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) under optimal irrigation and drought stress conditions. *Journal of Crop Ecophysiology*, *14*(56), 479-478. (In Persian). https://doi.org/10.30495/jcep.2021.679976
35- Shoja, H.M., & Shishavan, H.K. (2021). Effects of different hormonal treatments on growth parameters and secondary metabolite production in organ culture of *Hyssopus officinalis* L. *BioTechnologia*, *102*(1), 33-41. https://doi.org/10.5114%2Fbta.2021.103760
36- Skalák, J., Vercruyssen, L., Claeys, H., Hradilová, J., Černý, M., Novák, O., Plačková, L., Saiz-Fernández, I., Skaláková, P., Coppens, F., Dhondt, S., Koukalová, Š., Zouhar, J., Inzé, D., & Brzobohatý, B. (2019). Multifaceted activity of cytokinin in leaf development shapes its size and structure in Arabidopsis. *Plant Journal*, *97*(5), 805-824. https://doi.org/10.1111/tpj.14285
37- Sosnowski, J., Truba, M., & Vasileva, V. (2023). The impact of auxin and cytokinin on the growth and development of selected crops. *Agriculture*, *13*(3), 724. https://doi.org/10.3390/agriculture13030724
38- Tabeta, H., Gunji, S., Kawade, K., & Ferjani, A. (2023). Leaf-size control beyond transcription factors: Compensatory mechanisms. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 1024945. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1024945
39- Talon, M., Caruso, M., & Gmitter, J.F.G. (2020). *The Genus Citrus*. Woodhead Publishing, Elsevier Inc. All rights reserved. 538 p.
40- Tan, M., Li, G., Chen, X., Xing, L., Ma, J., Zhang, D., Ge, H., Han, M., Sha, G., & An, N. (2019). Role of cytokinin, strigolactone, and auxin export on outgrowth of axillary buds in apple. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 616. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00616
41- Tanavardi, S., Tafazoli, E.A., Panahi, B., & Samiei, Kh. (2013). *Investigating the effect of using different concentrations of kinetin and bending the stem on stimulating the bud growth of Miyagawa mandarin* scion. 6th National Conference on Watershed Management and Soil and Water Resources Management, Kerman, Iran. (In Persian)
42- Wu, W., Du, K., Kang, X., & Wei, H. (2021). The diverse roles of cytokinins in regulating leaf development. *Horticulture Research*, *8*(1), 1-13. https://doi.org/10.1038/s41438-021-00558-3
43- Xiong, D., Wang, D., Liu, X., Peng, S., Huang, J., & Li, Y. (2016). Leaf density explains variation in leaf mass per area in rice between cultivars and nitrogen treatments. *Annals of Botany*, *117*(6), 963-971. https://doi.org/10.1093/aob/mcw022
44- Yadav, R.K., & Saini, P.K. (2018). Plant hormones: Their nature occurrence and functions: A chapter. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, *6*(6), 13-17.
45- Zavaleta-Mancera, H.A., López-Delgado, H., Loza-Tavera, H., Mora-Herrera, M., Trevilla-García, C., Vargas-Suárez, M., & Ougham, H. (2007). Cytokinin promotes catalase and ascorbate peroxidase activities and preserves the chloroplast integrity during dark-senescence. *Journal of Plant Physiology*, *164*(12), 1572-1582. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.02.003
46- Zubo, Y.O., Yamburenko, M.V., Selivankina, S.Y., Shakirova, F.M., Avalbaev, A.M., Kudryakova, N.V., Zubkova, N.K., Liere, K., Kulaeva, O.N., Kusnetsov, V.V., & Börner, T. (2008). Cytokinin stimulates chloroplast transcription in detached barley leaves. *Plant Physiology*, *148*(2), 1082-1093. https://doi.org/ 10.1104/pp.108.122275